BEITRÄGE ZUR LEHRE

VON DER

KOMPLEMENTABLENKUNG.

INAUGURAL-DISSERTATION

VERFASST UND DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

KGL. BAYER. JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

VORGELEGT VON

EDUARD ROSE

AUS

DÜSSELDORF.

ACAD. LANDSHUT BIBL.

WÜRZBURG.

BUCHDRUCKEREI FRANZ STAUDENRAUS

1907.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

Referent:
Herr Geh.-Rat Prof. Dr. von Leube.

Im Jahre 1902 machte Gengou (1) die Beobachtung, dass Komplemente durch ein Präzipitat gebunden werden können. Weitere Bedeutung wurde dieser Tatsache nicht zugelegt. Erst im September 1905 machte Moreschi (2) auf Grund eigener Beobachtung derselben Erscheinung darauf aufmerksam, wie wichtig diese für die Theorie von der Lehre von den Antikomplimenten sei. Moreschi benutzt den Ambozeptor eines mit Blutinjektionen vorbereiteten Kaninchens, Meerschweinchenkomplement und die betreffende, dem Kaninchen injizierte Blutart. Fehlt in dieser hämolytischen Kombination einer der genannten Faktoren, so kann keine Hämolyse eintreten; das Ausbleiben der Hämolyse zeigt also auch an, ob Komplementablenkung stattgefunden hat, oder nicht. Zunächst wies Moreschi darauf hin, dass die Komplementablenkung durch das Zusammenwirken zweier Komponente zustande kommt, nämlich 1. irgend einer Serumart und 2. des Antiserums (A.-S.), das durch Injektion des ersten Serums gewonnen ist. Die letztgenannten Sera haben die Fähigkeit in den Sera, die zur Vorbehandlung gedient haben, einen Niederschlag hervorzurufen; man nennt derartige Antisera jetzt allgemein Präzipitinsera, während der für die Sera,

welche zur Vorbereitung gedient haben, gebräuchliche Ausdruck Präzipitinogen, nach Rostoski (3) besser durch den Ausdruck präzipitable Substanz zu ersetzen ist, während man präzipitinogen für das die Präzipitine bei der Injektion erzeugende Prinzip reservieren sollte. Diese Komplementbindung kommt auch dann zustande, wenn die präzipitable Substanz nur in Spuren vorhanden ist. Diesen Umstand benutzten Neisser und Sachs (4) dazu, eine neue Methode zum Blutnachweis für forensische Zwecke auszuarbeiten.

Es gelang ihnen, ausserordentlich geringe Serummengen bis zu $^1/_{1\,000\,000}$ ccm nachzuweisen.

1. Eine geringe Einschränkung ihrer Brauchbarkeit zu forensischen Zwecken hat die Methode durch Friedberger (5) erfahren. Mit einem sehr hochwertigen Menschen A.-S., das herzustellen nur unter besonders günstigen Umständen gelingt, weist er die unglaublich kleine Serummenge von $^1/_{1000}$ Million eines ccm nach. Dann zeigt er aber, dass auch der menschliche Schweiss in einer Verdünnung von $^1/_{10000}$ ccm noch im Stande ist, bei Zutritt von Menschen A.-S. Komplementablenkung hervorzurufen. Bei geringwertigen A.-S., die nur einen S.-Nachweis bis zu $^1/_{100\,000}$—$^1/_{1\,000\,000}$ ccm zulassen, besteht diese Gefahr nicht. Anderseits ein Vorteil gegenüber der Präzipitationsmethode, bei der es darauf ankommt, möglichst hochwertiges A.-S. zu besitzen.

2. Von Schütze (6) wurde die Komplementablenkungsmethode auch zum Nachweis der Herkunft von Hackfleisch und Entdeckung von Wurstfälschungen durch Zusatz minderwertigen Fleisches als brauchbar gefunden.

In einer zweiten Arbeit legte Moreschi (7) durch genaue quantitative Untersuchungen fest, dass, wenn die Komplementbindung zustande kommen soll, Präzipitin und präzipitable Substanz, Ambozeptor und Komplement in bestimmten Verhältnissen stehen müssen.

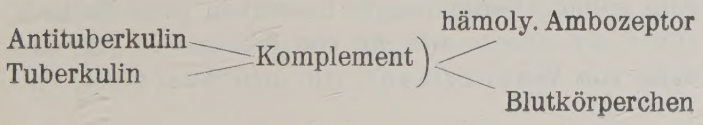
Kurze Zeit später veröffentlichte Gay (8) unabhängig von Moreschi gefundene Resultate, die Moreschis Untersuchungen bestätigten.

Ausserdem suchte Gay auch die sogenannten Neisser-Wechsbergsche (20) Komplementablenkung durch die spezifische Präzipitatbildung beim Zusammentreffen des bakteriolytischen Immunserums mit den aus den Bakterien stammenden präzipitablen Substanzen zu erklären.

Damit war wieder ein Feld für neue Untersuchungen eröffnet.

Wassermann (9) geht von der Frage aus, warum ein Körper, der einen tuberkulösen Herd beherbergt, immer auf die Einspritzung kleinster Mengen Tuberkulin, die durch die gesamte Blutmenge noch auf das 5000fache verdünnt werden, reagiert.

Er geht von folgender Überlegung aus: Der tuberkulös infizierte Körper bildet an der erkrankten Stelle einen Antikörper, der alles Tuberkulin, was in den Kreislauf gelangt, an sich reisst und dann die spezifische Reaktion des Organismus auslöst. Diesen Antikörper sucht Wassermann mittelst der Komplementablenkung nachzuweisen.



So klar und einleuchtend diese Versuche sind, ist ihre Richtigkeit doch von anderer Seite angezweifelt worden.

Weil und Nakayana (10) zeigen in ihren Versuchen, dass das Tuberkulin und der Tuberkelbazillenextrakt, schon jedes für sich allein imstande sind, die Hämolyse aufzuheben, wenn sie in zwar geringen, aber etwas grösseren Mengen verwandt werden, als Wassermann zu seinen Versuchen benutzt hat. Der Tuberkelbazillenextrakt und das Tuberkulin heben in den von Wassermann verwandten Mengen jedes für sich allein die Hämolyse nicht auf, die Summe beider Substanzen stellt aber eine Menge dar, die fähig ist, die Hämolyse aufzuheben.

Schliesslich ist es Pfeiffer und Moreschi (11) gelungen, Komplementablenkung durch Präzipitin und präzipitabler Substanz im Tierkörper zu demonstrieren. Statt einer hämolitischen Kombination, die bei Reagenzglasversuchen die Komplementablenkung erkennen lässt, nehmen sie Choleraimmunkörper und Choleravibrionen. Brachten sie alles zusammen in geeigneten Mengen in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens, so ging das Tier zu Grunde, weil die Komplemente nicht an den Immunkörper herantraten, sondern durch das Präzipitin abgelenkt wurden.

Durch genaue quantitative Untersuchungen konnten Pfeiffer und Moreschi zeigen, dass der Tod des Tieres nur dann erfolgte, wenn A.-S. und S. in geeignetem Mengenverhältnis vorhanden war.

Schon oben wurde erwähnt, dass zuerst Neisser und Sachs die Komplementablenkung zum Nachweis ganz geringer Serummengen benutzten. Diese Methode stützt sich ebenso wie die von Uhlenhut (12) und dann von Wassermann (13) und Stern (14) ent-

deckte biologische Methode des Blutnachweises auf die merkwürdige Erscheinung, dass jede Tierspezies durch Generationen immer nur dasselbe spezifische Eiweis aufbaut, das höchstens bei nahe verwandten Tieren ähnliche biologische Eigenschaften aufweist.

Auch bei der neuen Methode geschieht der Serumnachweis mittelst des spezifischen Präzipitins, nur wird das Vorhandensein des zugehörigen S. nicht durch das Präzipitat als solches demonstriert, sondern durch das Ausbleiben von Hämolyse infolge Komplementablenkung durch das Zusammenwirken von Präzipitin und präzipitabler Substanz.

Zu meinen Versuchen wurde A.-S. (Anti-Serum) von Kaninchen benutzt, die mit S. (Serum) einer bestimmten Tierspezies vorbehandelt waren, als hämolytischer Ambozeptor Kaninchenserum von mit Hammelblutkörperchen vorbereiteten Kaninchen. Das S. des zur Vorbehandlung dienenden Blutes wurde durch Waschen der Blutkörperchen entfernt, weil sonst neben dem Ambozeptor Präzipitine gebildet werden, die eventuell störend wirken können; als Komplement frisches Meerschweinchen-Blutserum. I. In allen Versuchen muss das Komplement längere Zeit mit dem A.-S. und dem zugehörigen S. in Kontakt gelassen werden, damit das Komplement gebunden werden kann, fügt man sofort auch hämolytischen Ambozeptor und Blutkörperchen zu, so ist die Komplementablenkung nicht gewiss, weil Ambozeptor und Blutkörperchen im Allgemeinen das Komplement mit grösserer Avidität an sich reissen, als A.-S. + S.

II. Bevor die eigentlichen Versuche angestellt werden konnten, musste zunächst des A.-S. auf seine Wirkungsfähigkeit geprüft werden. Zu diesem Zwecke liess ich verschiedene Mengen A.-S. mit konstanten Mengen zugehörigem S. und Komplement 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen, dann wurde der hämolytische Ambozeptor und Blutkörperchen zugesetzt.

Menschen A.-S.	Menschen S.	Meerschwein. S. als Komplem.	Hammelblut-ambozeptor vom Kaninchen	5% Hammel-blutkörper-chenauf-schwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
0,2	0,0001	0,04	0,002	1 ccm	—
0,1	0,0001	0,04	0,002	1 ccm	—
0,05	0,0001	0,04	0,002	1 ccm	—
0,025	0,0001	0,04	0,002	1 ccm	—
0,01	0,0001	0,04	0,002	1 ccm	—
0,005	0,0001	0,04	0,002	1 ccm	—
0,001	0,0001	0,04	0,002	1 ccm	fast komplett

1 Stunde bei 20°.

Die vorstehende Tabelle zeigt, dass die kleine Menge 0,005 A.-S. genügte, um noch vollständige Komplementablenkung zu veranlassen, während bei 0,001 die Hämolyse fast komplett war. Um nun zu sehen, welche Menge A.-S. am günstigsten war zum Nachweis kleinster Mengen von Normal S. wurde noch folgender Versuch angestellt, bei dem ausserdem von S. nur der 10. Teil genommen wurde.

Menschen A.-S.	Menschen S.	Meerschwein. S. als Komplem.	Hammelblut-ambozeptor vom Kaninchen	5% Hammel-blutkörper-chenauf-schwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
0,02	0,00001	0,05	0,002	1 ccm	fast komplett
0,01	0,00001	0,05	0,002	1 ccm	Spur
0,008	0,00001	0,05	0,002	1 ccm	komplett
0,005	0,00001	0,05	0,002	1 ccm	komplett
1 Stunde 20°.					

Das Wirkungsoptimum des Menschen A.-S. liegt also zwischen 0,02 und 0,01. Auch Neisser und Sachs (15) fanden, dass bei wirksamen A.-S. das Wirkungsoptimum etwa bei 0,02 A.-S. liegt. Da meine übrigen A.-S. ungefähr alle gleich präzipitierende Wirkung besassen, konnte ich annehmen; dass auch ihre Komplement ablenkende Wirkung ungefähr die gleiche war; um dies festzustellen genügten folgende Versuche:

Pferde A.-S.	Pferde S.	Meerschwein. S. als Komplem.	Hammelblut-ambozeptor vom Kaninchen	5% Hammel-blutkörper-chenauf-schwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
0,01	0,00001	0,08	0,0017	1 ccm	deutlich
0,015	0,00001	0,08	0,0017	1 ccm	—
0,02	0,00001	0,08	0,0017	1 ccm	—
1 Stunde bei 20°.					

Enten A.-S.	Enten S.	Meerschwein. S. als Komplem.	Hammelblut-ambozeptor vom Kaninchen	5 % Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
0,01	0,00001	0,08	0,0017	1 ccm	deutlich
0,015	0,00001	0,08	0,0017	1 ccm	Spur
0,02	0,00001	0,08	0,0017	1 ccm	—
1 Stunde bei 20°.					

Schweine A.-S.	Schweine S.	Meerschwein. S. als Komplem.	Hammelblut-ambozeptor vom Kaninchen	5 % Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
0,01	0,00001	0,08	0,0017	1 ccm	Spur
0,015	0,00001	0,08	0,0017	1 ccm	—
0,02	0,00001	0,08	0,0017	1 ccm	—
1 Stunde bei 20°.					

Folgende Tabellen zeigen die Brauchbarkeit der Methode zum Nachweis ganz geringer Serummengen.

T. I.

Menschen A.-S.	Menschen S.	Meerschwein. S. als Komplem.	Hammel-ambozeptor	5 % Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
0,015	0,1	0,1	0,002	1 ccm	komplett
0,015	0,01	0,1	0,002	1 ccm	—
0,015	0,001	0,1	0,002	1 ccm	—
0,015	0,0001	0,1	0,002	1 ccm	—
0,015	0,00001	0,1	0,002	1 ccm	—
0,015	0,000001	0,1	0,002	1 ccm	fast komplett
0,015	0,0000001	0,1	0,002	1 ccm	komplett
1 Stunde bei 20°.					

T. II.

Enten A.-S.	Enten S.	Meerschwein. S. als Komplem.	Hammel-ambozeptor	5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
0,02	0,1	0,125	0,003	1 ccm	—
0,02	0,01	0,125	0,003	1 ccm	—
0,02	0,001	0,125	0,003	1 ccm	—
0,02	0,0001	0,125	0,003	1 ccm	—
0,02	0,00001	0,125	0,003	1 ccm	—
0,02	0,000001	0,125	0,003	1 ccm	wenig
0,02	0,0000001	0,125	0,003	1 ccm	komplett

1 Stunde bei 20°.

T. III.

Pferde A.-S.	Pferde S.	Meerschwein. S. als Komplem	Hammel-ambozeptor	5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
0,015	0,1	0,15	0,003	1 ccm	—
0,015	0,01	0,15	0,003	1 ccm	—
0,015	0,001	0,15	0,003	1 ccm	—
0,015	0,0001	0,15	0,003	1 ccm	—
0,015	0,00001	0,15	0,003	1 ccm	—
0,015	0,000001	0,15	0,003	1 ccm	komplett

1 Stunde bei 20°.

T. IV.

Schweine A.-S.	Schweine S.	Meerschwein. S.	Hammel-ambozeptor	5% Hammelblutkörperch.	Hämolyse nach 2 Std.
0,02	0,2	0,1	0,002	1 ccm	—
0,02	0,1	0,1	0,002	1 ccm	—
0,02	0,01	0,1	0,002	1 ccm	—
0,02	0,001	0,1	0,002	1 ccm	—
0,02	0,0001	0,1	0,002	1 ccm	—
0,02	0,00001	0,1	0,002	1 ccm	—
0,02	0,000001	0,1	0,002	1 ccm	komplett

1 Stunde bei 20°.

Zentrifugiert man und fügt zu den mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Bodensatz neues Komplement, so tritt jedesmal Hämolyse ein, es kann sich also nicht um Antiambozeptoren sondern nur um antikomplementäre Wirkung handeln. Zur Kontrolle wurde bei allen Versuchen statt des zugehörigen S. verschiedene andere S. in der Menge von 0,001 zugefügt, worauf jedesmal prompt Hämolyse eintrat z. B.

0,001	Menschen A.-S.	Meerschwein. S.	Hammelblut-ambozeptor	5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
Pferde S.	0,015	0,15	0,002	1 ccm	komplett
Schweine S.	0,015	0,15	0,002	1 ccm	komplett
Enten S.	0,015	0,15	0,002	1 ccm	komplett
Hunde S.	0,015	0,15	0,002	1 ccm	komplett

1 Stunde bei 20°.

Die angeführten Versuche zeigen zur Genüge die Brauchbarkeit der Methode zum Blutnachweis für forensische Zwecke. $^1/_{100}$ mg. S. können stets mit Sicherheit nachgewiesen werden. In einigen Fällen auch noch $^1/_{1000}$ mg. S. Auf Eiweiss berechnet ist es, wenn man den Eiweissgehalt des S. zu 10% annimmt (tatsächlich ist er sogar noch weniger) $^1/_{1000}$ bzw. $^1/_{10000}$ mg. Eiweiss. Bei der Ausführung der Versuche wurde die minimal komplett lösende Ambozeptormenge und $1^1/_2$—2 fache minimale Komplementmenge genommen. Bestimmt wurde diese in der üblichen Weise, die Ambozeptormenge bei Komplementüberschuss, dann die Komplementmenge, nur ist darauf zu achten, dass Meerschweinchen S. oft an sich schon Hammelblutkörperchen löst, in einem Falle lösten 0,15 Meerschweinchen S. 1 cc. 5% Hammelblutkörperchen schon komplett. Noch nirgends wurde hervorgehoben, dass es in einem solchen Falle unmöglich ist die minimale Ambozeptormenge zu bestimmen, wenn man nicht vorher den Ambozeptor des Meerschweinchen S. eliminiert. Dies geschieht durch 1 stünd. Stehenlassen des Meerschweinchen S. mit Hammelblutkörperchen bei 0° und nachfolgendem Abzentrifugieren der an die Blutkörperchen gebundenen Ambozeptoren. Auffällig in der Tabelle I ist die vollständig eingetretene Hämolyse bei 0,1 Menschen S. Zusatz, die Vorversuche haben schon gezeigt, dass für das A.-S. ein gewisses Optimum der Wirkung besteht, ebenso wie es früher bei der Präzipitation beobachtet war. Desgleichen ist bekannt, dass die Präzipitation ausbleibt, wenn zuviel präzipitable Substanz zum A.-S. gesetzt wird, wie von Rostoski (16) und Michaelis (17) gezeigt wurde. Ein völliges Analogon bietet das Ausbleiben der Komplementablenkung bei Zusatz grösserer Mengen Normal S.

Diese Erscheinung wird meist dadurch verdeckt, dass das normale S. schon in der Menge von 0,1 ganz gewöhnlich Stoffe enthält, die die Hämolyse vollständig aufheben können, wenigstens wenn man wie bei diesen Versuchen mit minimalen Ambozeptor- und Komplementmengen arbeitet. z. B.

Enten S.	Meerschwein. S.	Hammelblut-ambozeptor	5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse 2 Stunden bei 37°.
0,1	0,075	0,002	1 ccm	—
0,075	0,075	0,002	1 ccm	—
0,05	0,075	0,002	1 ccm	—
0,025	0,075	0,002	1 ccm	—
0,01	0,075	0,002	1 ccm	komplett

1 Stunde bei 20°.

0,025 normales Enten S. ist also wie aus obiger Tabelle hervorgeht sicher allein im Stande die Hämolyse vollständig aufzuheben. Zentrifugiert man und schwemmt den Bodensatz mit 0,85% Kochsalzlösung auf, so tritt Hämolyse ein, es war also ein Antikomplement, das die Hämolyse aufhob, wie ja auch Marschal und Sachs (18) durch genaue quantitative Untersuchung nachgewiesen haben, dass die Antikomplementwirkung die Antiambozeptorwirkung natürlicher S. so überwiegt, dass letztere kaum in Betracht kommt. Schon oben wurde hervorgehoben, dass zu den Versuchen die

minimale Ambozeptormenge und die $1^1/_2$—2 fach komplett lösenden Komplementmengen angewandt wurde. Ändern sich diese beiden Faktoren, so tritt die Ablenkung weniger deutlich zu Tage. Z. B. Meerschweinchen-S. 0,03 ist die minimale Komplementmenge.

Schweine A.-S.	Schweine S.	Meerschwein. S. als Komplem.	5 % Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hammelblut als Ambozeptor	Hämolyse
0,02	0,1	0,2	1 ccm	0,003	—
0,02	0,01	0,2	1 ccm	0,003	—
0,02	0,001	0,2	1 ccm	0,003	fast komplett
0,02	0,0001	0,2	1 ccm	0,003	komplett

1 Stunde bei 20 °.

Aus der Tabelle geht hervor, dass bei Zusatz der circa 7 fach minimal lösenden Komplementmenge bei im übrigen gleicher Versuchsanordnung wie oben Ablenkung erst bei 0,01 S. also 1000 mal grösserer S. Menge zu Tage tritt. 0,003 ist die minimale Ambozeptormenge die bei Komplementzusatz im Stande ist, 1 ccm 5 % Hammelblutkörperchenaufschwemmung zu lösen. Bei geeigneter Versuchsanordnung ist man im Stande 0,00001 Schweine S. nachzuweisen; nimmt man nun statt 0,003 0,008 Ambozeptor so tritt bei 0,00001 Schweine S. vollständige Hämolyse ein, die ablenkende Wirkung bleibt also aus, erst die zehnfache Menge nämlich 0,0001 Schweine S. ist im Stande die Komplementablenkung hervorzurufen.

Neisser und Sachs (15) erklären diese Erscheinung so, dass durch Präzipitin und präzipitable Substanz, wenn diese letzte nur in kleiner Menge vorhanden ist, nicht alle Komplemente abgelenkt werden, sondern noch freie Komplemente übrig bleiben, die bei der minimalen Ambozeptormenge kaum sichtbare Hämolyse veranlassen, aber beim Steigen der Ambozeptormenge genügen diese wenigen freien Komplemente zur vollständigen Hämolyse.

Für die forensische Praxis empfehlen Neisser und Sachs (15) in erster Linie natürliche Hämolyse und zwar mit S. von Laboratoriumtieren, um jederzeit das hämolytische S. zur Hand zu haben, ohne sich erst einen künstlichen Ambozeptor herstellen zu müssen. Sie wählen die Kombination frisches Kaninchen S., das also Ambozeptor und Komplement enthält und Hammelblutkörperchen löst. Man lässt die minimale komplett lösende Menge Kaninchen S. mit dem Anti-S.+ S. 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen und setzt dann Hammelblutkörperchen zu.

Ich habe die Versuche angestellt mit Ziegen-, Hammel-, Ochsen- und Hunde-S., die hämolytisch auf Kaninchen- und Meerschweinblutkörperchen wirken.

Diese umgekehrte Versuchsanordnung hielt ich für zweckmässiger, das wenige Blut, welches man zur Blutaufschwemmung braucht, von Laboratoriumtieren zu beziehen, und die bedeutend grösseren notwendigen Blutmengen für die hämolytischen Sera vom Schlachthofe. Zu meiner Überraschung gelang mir die Komplementablenkung bei den angegebenen Kombinationen nicht.

Menschen A.-S.	Menschen S.	Fr. Ochsen-S. als Ambozept. und Komplem.	5% Meerschweinchenblutkörper-Aufschwemm.	Hämolyse nach 2 Std. bei 37°.
0,015	0,1	0,05	1 ccm	komplett
0,015	0,01	0,05	1 ccm	komplett
0,005	0,001	0,05	1 ccm	—
0,015	0,0001	0,05	1 ccm	—
0,015	0,00001	0,05	1 ccm	—
0,015	0,000001	0,05	1 ccm	—
1 Stunde bei 20°.			0,05 die Serummenge, welche 1 ccm Blut gerade noch komplett löst.	

Menschen A.-S.	Menschen S.	Hammelbl.-S. als Ambozept. u. Komplem.	5% Meerschw. blutkörperchenaufschwemm.	Hämolyse nach 2 Std.
0,015	0,1	0,3	1 ccm	komplett
0,015	0,01	0,3	1 ccm	komplett
0,015	0,001	0,3	1 ccm	komplett
0,015	0,0001	0,3	1 ccm	komplett
0,015	0,00001	0,3	1 ccm	komplett
0,015	0,000001	0,3	1 ccm	komplett
1 Stunde bei 20°				

0,3 die minimale komplett lösende Hammel-S.-Menge. Inaktivierte ich das Hammelserum und ersetze das Komplement durch Ochsen-S., dem der für Meerschweinchenblutkörperchen hämolytische Ambozeptor vorher entzogen war, so genügte jetzt 0,01 Hammel-S. und 0,2 Ochsen-S. zur vollsten Hämolyse. Das eigene Komplement war erst bei der 30 fachen Hammelserummenge in genügender Menge zur Hämolyse vorhanden. Also war in der verwandten Menge auch der 30 fache Ambozeptorüberschuss vorhanden.

Schon vorher habe ich gezeigt, dass bei geringem Ambozeptorüberschuss das Ablenkungsphänomen weniger deutlich erscheint. Daher glaubte ich, dass der Ambozeptorüberschuss die Schuld an dem Misserfolg trüge und stellte einen Parallelversuch mit der gewöhnlich von mir verwandten hämolytischen Kombination an.

Die 30 fache gerade komplettlösende Ambozeptormenge betrug 0,9 Hammelblutkörperchenambozeptor, die minimale Komplementmenge, welche zur Lösung nötig war, 0,02 Meerschweinchen S.

Pferde A.-S.	Pferde S.	Meerschwein. S.	Hammelblut-ambozeptor	5 % Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse
0,02	0,01	0,02	0,9	1 ccm	—
0,02	0,001	0,02	0,9	1 ccm	—
0,02	0,0001	0,02	0,9	1 ccm	—
0,02	0,00001	0,02	0,9	1 ccm	—
0,02	0,00001	0,02	0,9	1 ccm	komplett
0,02	0,000001	0,02	0,9	1 ccm	komplett

1 Stunde bei 20 °.

Der Versuch zeigt, dass bei Ambozeptorüberschuss und minimaler Komplementmenge die Komplemente in derselben Weise abgelenkt werden wie bei minimaler Ambozeptormenge. Es bleibt demnach nur die Erklärung für den Misserfolg bei Verwendung einiger natürlich hämolytischer Sera übrig, dass der Ambozeptor der bei diesen Versuchen nicht vom Komplement getrennt werden kann, nicht zulässt, dass das Komplement durch Präzipitin und präzipitable Substanz gebunden wird; d. h. vielleicht bindet der Ambozeptor dieser Sera, ohne an die Blutkörperchen verankert zu sein, entgegen den bisherigen Anschauungen, das Komplement bei Zimmertemperatur.

Die Überlegenheit der neuen Eiweissbestimmungsmethode gegenüber der alten Präzipitationsmethode ergab die Untersuchung einer mir vom Herrn Dr. Rostoski gütigst überlassenen Flüssigkeit, die von einem ausgelaugten Blutfleck stammte, dessen Herkunft zu forensischen Zwecken bestimmt werden sollte.

I. Präzipitationsmethode

1,0 ausgelaugte Flüssigkeit mit 0,3 Menschen A.-S. 2 Stunden bei 37° zeigt nur deutliche Trübung, keinen Niederschlag.

Die Präzipitationsmethode versagte also hier.

II. Komplementablenkungsmethode s. Tabelle.

Ausgelaugte Flüssigkeit	Menschen A.-S.	Meerschwein. S. als Komplem.	5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hammelambozeptor	Hämolyse nach 2 Std.
0,01	0,015	0,1	1 ccm	0,003	—
0,05	0,015	0,1	1 ccm	0,003	—
0,01	0,015	0,1	1 ccm	0,003	—
0,005	0,015	0,1	1 ccm	0,003	—
0,0025	0,015	0,1	1 ccm	0,003	deutlich
0,001	0,015	0,1	1 ccm	0,003	fast komplett

1 Stunde bei 20°.

Kontrollversuche:

0,1 ausgelaugte Fl.

a) ohne A.-S.

b) mit den übrigen A.-S. (von Pferd, Ente und Schwein)

bei im übrigen gleicher Versuchsanordnung: jedesmal komplette Hämolyse.

Bei der 500fachen Verdünnung der Auslaugflüssigkeit gegenüber der zum Nachweis mittelst Präzipitation erforderlichen Menge war ich mit der neuen Methode im Stande, die Herkunft des Blutes zu bestimmen.

Der Bedeutung für die Lehre von den antihämolytischen Körpern ist der 2. Teil meiner Arbeit gewidmet.

Bisher nahm man als bewiesen an, dass bei der Immunisierung von Tieren mit einem artfremden S. Antikomplemente entstehen, welche die Wirkung der aktiven Komplemente des S., das zur Vorbehandlung diente, aufhoben. Ob aktives oder inaktives S. zur Vorbehandlung diente, war gleichgültig, die Komplemente gingen eben nach der herrschenden Ansschauung beim Inaktivieren der Sera in Komplementoide über, d. h. sie verlieren ihre zymotoxische Gruppe, sind aber mit ihrer haptophoren Gruppe noch fähig, sich an geeignete Rezeptoren zu verankern und so deren Abstossung, Überregeneration und die Bildung von Antikomplementen zu veranlassen, ebenso wie die inaktive Form der Toxine die Toxoide, befähigt sind, Antitoxine zu bilden.

In seiner VI. Mitteilung II. Teil über Antikomplemente führte Ehrlich und Morgenroth einen grundlegenden Versuch näher aus. Als Ambozeptor diente Ziegenblut inakt., das bei Zusatz von aktivem Pferdeblutserum hämolytisch auf Kaninchenerythrocyten wirkt. Zunächst zeigte Ehrlich, dass das antikomplementäre S. einer mit Pferde S. vorbehandelten Ziege zu den Blutkörperchen und Ambozeptor in keiner die Hämolyse hemmenden Beziehung steht. Nach Abzentrifugieren der mit dem A.-S. in längerem Kontakt gelassenen Ambozeptoren und Blutkörperchen trat bei neuem Komplementzusatz prompt Hämolyse ein. Dann musste Ehrlich gemäss seiner Anschauung von der Beschaffenheit des Komplements noch zeigen, ob das Antikomplement in die haptophore oder zymotoxische Gruppe eingreift. Würde das A.-S. an die zymotoxische Gruppe angreifen, so wäre die haptophore Komplementgruppe im Stande, sich mit der entsprechenden Ambozeptorgruppe zu verbinden und

so den weiteren Zutritt aktiven Komplements zu verhindern. Das geschieht bekanntlich nicht; nach Abzentrifugieren der mit Ambozeptor beladenen Blutkörperchen und Wiederaufschwemmung in 0,85 % Na Cl - Lösung tritt bei neuem Komplementzusatz Hämolyse ein. Neben dem Antikompliment besitzen die auf die oben angeführte Art gewonnenen Sera auch präzipitierende Wirkung auf das zur Vorbereitung dienende S., das war ja schon längst bekannt, aber niemand dachte daran, ob nicht die antikomplimentäre und präzipitierende Wirkung der A.-S. in Zusammenhang ständen, wie es jetzt Moreschi gezeigt hat. Dass die Komplemente durch das Zusammenwirken von Präzipitin und präzipitabler Substanz abgelenkt werden, steht ja jetzt ausser Zweifel, aber ebensowenig kann bewiesen werden, ob das A.-S. nicht auch noch Antikomplemente enthält. Denn in dieser Versuchsanordnung, wie ich sie oben angeführt habe, ist Komplement und Normalserum in einem S. vorhanden und es besteht daher nicht die Möglichkeit, zu entscheiden, ob die antikomplementäre Wirkung durch Komplementablenkung oder Antikomplemente im Ehrlich'schen Sinne hervorgerufen wird. Steht es aber nun einmal fest, dass die scheinbare antikomplementäre Wirkung des A.-S. allein durch das Ablenkungsphänomen erklärbar ist, so kann auch anderseits nicht der Übergang der Komplimente in Komplementoide durch die Erzeugung von antikomplementärer Sera im Tierkörper mittelst inaktivierter Normalsera bewiesen werden. Danach bleibt nur ein Versuch über, auf den sich die von Ehrlich angenommene Konstitution der Komplemente stützt. Nur in einem Falle ist es Ehrlich (19) geglückt, Komplementoide, welche die komplementophilen Ambo-

zeptorgruppen verstopfen, in vitro nachzuweisen. Moreschi scheint die Nachprüfung des Versuchs nicht gelungen zu sein, wenn er unter anderem die Wendung gebraucht: „Die Richtigkeit der Ehrlich-Sachs'schen Befunde ist bei der Zuverlässigkeit der beiden Autoren über jeden Zweifel erhaben."

Es handelt sich in diesem Ausnahmefalle des direkten Komplementoidnachweises um Hunde-S., das hämolytisch auf Meerschweinchenblutkörperchen wirkt. Inaktiviert man das Hunde-S. durch $^1/_2$ stünd. Erhitzen auf 50—51° (eine höhere Temperatur verträgt der Hundeserumambozeptor nicht) und fügt frisches Meerschweinchen-S. zu, so tritt wieder Hämolyse ein, z. B. 0,2 Hunde-S. inakt. + 0,5 Meerschweinchen-S. genügen, um 1 ccm 5% Meerschweinchenblutkörperchen-Aufschwemmung zu lösen.

0,3 Hunde-S. inakt.
+ 0,5 Meerschweinchen-S.
+ 1 ccm 5% Meerschweinchenblutkörperchen-Aufschwemmung

werden zusammen in den Brutschrank gestellt nach $^1/_2$ Stunde komplette Hämolyse. Lässt man nun 1 ccm Blutaufschwemmung + 0,3 inakt. Hunde-S. bei 37° 1 Stunde lang stehen und fügt dann Komplement zu, so tritt keine Hämolyse ein; ebensowenig, wenn man die Blutkörperchen vorher abzentrifugiert, mit Kochsalzlösung aufschwemmt und dann Komplement zufügt. Vereinigte ich das Hunde-S. mit den Meerschweinchenblutkörperchen bei 0°, und liess beide eine Stunde bei derselben Temperatur stehen, zentrifugierte und fügte zu dem mit Kochsalzlösung aufgeschwemmten Bodensatz Komplement, zu der abpipettierten Flüssigkeit Komplement und Blutkörperchen, so trat in beiden Fällen keine Hämolyse ein.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass die Ambozeptoren an die Blutkörperchen verankert waren und gleichwohl bei Komplementzusatz keine Hämolyse eintrat, während Ambozeptor, Blutkörperchen und Komplement zusammen vereinigt, Hämolyse herbeiführten. Durch das 1stündige Verweilen der Blutkörperchen mit dem Hunde-S. war also die Komplementophilgruppe verstopft und so nicht fähig, Komplement zu binden. Nach der Annahme Ehrlichs geschieht diese Verstopfung durch die Komplementoide des inaktivierten Hunde-S. und es bleibt eine andere Annahme auch kaum übrig, namentlich nach den Versuchen Ehrlichs, der noch zeigen konnte, dass bei 0° allein der Ambozeptor des Hunde-S. gebunden wurde, während das Komplementoid nicht an den Ambozeptor herantrat, ebenso wie aus dem aktiven hämolitischen S. bei 0° allein die Ambozeptoren, nicht aber die Komplemente an die Blutkörperchen gebunden werden. Bei meinen Versuchen trat die Bindung des Komplementoids schon bei 0° ein, die Trennung von Ambozeptor und Komplementoid war deshalb ausgeschlossen. Diese Versuchsanordnung, bei der Blutkörperchen unter Mitwirkung der Komplemente des eigenen S. gelöst werden, stellt einen Ausnahmefall dar, wenn auch Ehrlich eine Reihe von hämolytischen Kombinationen angiebt, wo das eigene S. das zur Hämolyse nötige Komplement liefern kann, so haben doch die meisten Sera die Fähigkeit, ihre Blutkörperchen vor der Hämolyse zu schützen. (Deshalb nimmt man ja zu hämolytischen Versuchen immer gewaschene Blutkörperchen.

Nehme ich nun statt des Meerschweinchen-S. ein anderes Komplement etwa Ochsen-S., dessen auf Meerschweinchenblutkörperchen wirkender Ambozeptor

durch Stehenlassen mit Meerschweinchenblutkörperchen bei 0° entfernt war, sodass 1,0 Ochsen-S. nicht hämolytisch auf Meerschweinchenblut wirkte, so blieb das Verstopfungsphänomen aus, wie folgender Versuch zeigt:

Hunde S. inaktiv	5% Meerschw. blutkörperchenaufschwemmung		dann Ochsen-S. als Komplem.	Hämolyse
0,3	1 ccm	1 Std. bei 37°.	0,3	komplett
0,2	1 ccm		0,3	komplett
0,1	1 ccm		0,3	komplett
0,075	1 ccm		0,3	komplett
0,05	1 ccm		0,3	sehr stark

0,1 Hunde-S. brauchte die minimale Menge Komplement 0,125. Die minimale Ambozeptormenge betrug bei 0,3 Komplementzusatz 0,075. Auch in diesen beiden Fällen blieb die Komplementoidverstopfung des Hundeambozeptors aus. Ehrlich hat wohl auch sicher diese Versuche mit negativem Erfolg gemacht und deshalb nicht darüber berichtet. Nach Ehrlich wäre die Erklärung so zu fassen, dass der Hundeambozeptor mehrere komplementophile Gruppen besitzt, durch das Komplementoid des Hunde-S. werden dieselben komplementophilen Gruppen verstopft, an die auch das Komplement des Meerschweinchenserums herantritt, während andere komplementophile Gruppen frei bleiben, sodass andersartiges Komplement noch Hämolyse herbeiführen kann.

Es lag nahe, das Vorhandensein von Komplementoiden mittelst des Ablenkungsphänomen zu beweisen. Ich erwärmte deshalb, um Komplementoide herzustellen, Meerschweinchen-S. $^1/_2$ Stunde auf 50° und stellte folgende Versuche an:

Inaktives Meerschw.-S.	Schweine A.-S.	Schweine S.		Aktives Meerschw.-S.		5% Hammelbl.-körperchenaufschwemmung u. Hammelambozeptor	Hämolyse
0,05	0,02	0,001	1 Std. bei 20°.	0,075	1 Std. bei 20°.	1 ccm + 0,003	—
0,075	0,02	0,001		0,075		1 ccm + 0,003	—
0,1	0,02	0,001		0,075		1 ccm + 0,003	—
0,15	0,02	0,001		0,075		1 ccm + 0,003	—
0,2	0,02	0,001		0,075		1 ccm + 0,003	—
Aktives Meerschw.-S.	„	„		Aktives Meerschw.-S.		„	„
0,05	0,02	0,001	1 Std. bei 20°.	0,075	1 Std. bei 20°.	1 ccm + 0,003	—
0,075	0,02	0,001		0,075		1 ccm + 0,003	—
0,1	0,02	0,001		0,075		1 ccm + 0,003	deutlich
0,15	0,02	0,001		0,075		1 ccm + 0,003	fast kompl.
0,2	0,02	0,001		0,075		1 ccm + 0,003	komplett
2 Stunden bei 37°.							

0,075 stellt die doppelte minimale Komplementmenge dar. Liess ich, wie oben gezeigt, aktives Meerschweinchen-S. in geringen Mengen 1 Stunde mit A.-S. und S. zusammenstehen, so wurden diese geringen Komplementmengen natürlich abgelenkt, setzte ich dann nach 1 Stunde wieder Komplement zu und zwar die doppelte minimal lösende Menge, so trat wieder Komplementablenkung ein, bis die Gesamtkomplementmenge so gross wurde, dass eine vollständige Ablenkung nicht mehr möglich war. Diese Grenze liegt bei 0,1 + 0,075 Komplementzusatz, hier tritt schon deutliche Hämolyse ein.

Vergleicht man mit diesem Ergebnis die obere Tabelle, so sieht man, dass das inaktivierte Meerschweinchen-S. auch in der Menge 0,2 absolut keinen Einfluss auf die weitere Bindung frischen Komplements ausüben kann; d. h. die Komplementoide werden nicht durch Präzipitin und präzipitable Substanz gebunden. Nach Ehrlichs Erklärung gilt auch für diesen Fall der Satz: „Die haptophore Gruppe des Komplements erfährt bei der Umwandlung in Komplementoid eine Verminderung ihrer Affinität.“ So sucht Ehrlich die Schwierigkeit des Nachweises der Komplementoide durch Verstopfung der komplementophilen Gruppe des Ambozeptors zu erklären. Mich wundert, dass man noch nicht folgende Frage berücksichtigt hat. Wenn die Komplementoide dem Ambozeptor gegenüber ihre Affinität eingebüsst haben, wie können sie dann noch geeignete Rezeptoren im Organismus finden, um Antikomplemente zu erzeugen. Dieser Widerspruch im Verhalten der Komplementoide in vivo und in vitro ist bei der grossen Übereinstimmung, die sonst zwischen den Vorgängen im lebenden Körper und Reagenzglase nach Ehrlichs Ansicht herrscht, immer-

hin auffallend. Bei der Beweisführung von der Vielheit der Komplemente stützt sich Ehrlich z. T. auf die Beobachtung, dass Antikomplemente auch auf die Komplemente anderer Sera als das, welches zur Vorbehandlung diente, wirkt. Bedarf nun diese Beweisführung nach Entdeckung des Ablenkungsphänomens der Revision, so spricht doch nichts gegen die Vielheit der Komplemente in einem Serum, ja es ist leichter, sich vorzustellen, dass alle die verschiedenen Komplemente durch Präzipitin und präzipitable Substanz abgelenkt werden, und so Antikomplemente vortäuschen, als dass diese Vielheit der Antikomplemente gebildet wird.

Die von Ehrlich beschriebenen Antiautokomplemente werden nach Moreschis Ansicht dadurch vorgetäuscht, dass im Organismus schon A.-S. gebildet wird und gleichzeitig noch normales zur Vorbehandlung dienendes S. in ihm kreist. Moreschi meint, dass mindestens bis zum 8. Tage nach der Injektion noch normales S. neben dem A.-S. nachzuweisen ist. Auch ich habe einen eingehenden Versuch über diese Frage angestellt, nachdem ich mich überzeugt hatte, dass meine A.-S., die am 6.—7. Tage nach der letzten Injektion dem Kaninchen abgenommen waren, schon an sich antikomplementär wirkten.

Z. B.

A.-S. vom		Meerschwein. S. als Komplem.	Hammelblut-ambozeptor	5 % Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse nach 2 Std.
Mensch	0,1	0,08	0,002	1 ccm	—
Mensch	0,05	0,08	0,002	1 ccm	komplett
Pferd	0,1	0,08	0,002	1 ccm	—
Pferd	0,05	0,08	0,00	1 ccm	komplett
Schwein	0,1	0,08	0,002	1 ccm	—
Schwein	0,05	0,08	0,002	1 ccm	komplett
Ente	0,01	0,08	0,002	1 ccm	komplett
Ente	0,05	0,08	0,002	1 ccm	komplett

1 Stunde bei 20°.

Das Enten A.-S. war erst am 10. Tage nach der letzten Injektion, die übrigen am 6.—7. Tage. Beim Vergleich dieser Tatsache mit der Tabelle ergibt sich die Erklärung für die antikomplementäre Wirkung der 1. drei A.-S. Diese A.-S. enthielten neben dem A.-S. auch noch normale Sera der zur Vorbehandlung dienenden Serumarten, während aus dem Blut des mit Enten-S. vorbereiteten Kaninchens am 10. Tage alles normale Enten-S. verschwunden war. Um zu sehen, wie lange sich normales S. nach einer Injektion im Tierkörper vorfindet, machte ich einem Kaninchen,

das 2 Monate vorher mit Menschen-S. vorbehandelt worden war, noch eine einmalige Injektion von 10 ccm in die Peritonealhöhle und zwar am 13. Juni. Dem Tier entnahm ich an einer Reihe von Tagen Blutproben, die ich darauf prüfte, ob sie an sich schon die Komplemente ablenkten.

		16. VI.	18. VI.	20. VI.	21. VI.	22. VI.	24. VI.
1 Std. b. 20°.	Serum (S.) vom vorbeh. Kaninchen	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	Meerschweinchen-S. als Komplement	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	Hammelblut-ambozeptor	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
	5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
	Hämolyse nach 2 Stunden bei 37°.	—	—	—	—	wenig	deutl.
1 Std. b. 20°.	S. vom vorbeh. Kaninchen	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075
	Meerschweinchen-S.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	Hammelblut-ambozeptor	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
	5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
	Hämolyse nach 2 Stunden bei 37°.	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	fast kompl.
1 Std. b. 20°.	S. vom vorbeh. Kaninchen	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
	Meerschweinchen-S. als Komplement	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	5% Hammelblutkörperchenaufschwemmung	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
	Hammelblut-ambozeptor	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
	Hämolyse nach 2 Stunden bei 37°.	wenig	wenig	wenig	wenig	deutl	kompl.

Noch am 11. Tage nach der Injektion zeigt schon die geringe Menge 0,1 S. des vorbehandelten Kaninchens deutlich antihämolytische Wirkung, dass diese durch natürliche Antikomplemente des Kaninchen-S. hervorgerufen werden könnte, ist ausgeschlossen, da Kaninchen-S. konstant Hammelblutkörperchen löst. Nach Ehrlichs Anschauung handelte es sich hier um ein Menschenantikomplement, das auch auf Meerschweinchenkomplemente wirkt. Das am 24. dem Tier abgenommene S. wirkt gut präzipitierend und Komplement ablenkend, warum soll es denn da nur die antikomplementäre Wirkung gegen Meerschweinchenkomplemente verloren haben? Es blieb nur die Erklärung übrig, dass im Körper des Tieres neben dem A.-S. auch noch normales S. kreist. Am 22. VI. nimmt die Menge des Normal S. schon ab, und am 24. tritt diese Abnahme noch deutlicher hervor.

Leider ging das Tier am 24. VI. ein, ich konnte daher nicht zeigen, wann das Normal S. vollständig aus dem Blut des Kaninchens verschwunden war. Ob das Tier nun infolge der Vergiftung mit körperfremden Eiweis oder aus einem anderen Grunde immer mehr abnahm und schliesslich starb, jedenfalls war es durch die Krankheit in der Fähigkeit Antikörper zu bilden beschränkt. Daraus erklärt sich, warum das Normal S. sich so lange im Körper des Tieres halten konnte. Jedenfalls zeigt der Fall die Möglichkeit, dass sich das Normal S. über 10 Tage im Körper des behandelten Kaninchens vorfinden kann.

Auf Grund der vorangegangenen Betrachtung kann ich mich den Worten Moreschis anschliessen: „der unzweifelhafte Nachweis echter Antikomplemente in dem bisherigen Ehrlich'schen Sinne ist nirgends geführt, vielmehr besteht in jedem Falle die Möglichkeit,

die beobachteten antikomplementären Effekte auf Komplementbindung durch Präzipitationsvorgänge zu beziehen."

Nicht nur die Lehre von den Antikomplementen, auch die Anschauung, welche man bisher von dem Wesen der Antiambozeptoren hatte, ist auf Grund der neuen Entdeckung angezweifelt worden. So sagt Pfeiffer am Schluss seiner oben erwähnten Arbeit: „Die antikomplementäre Wirkung des Präzipitates kann die Existenz von Antiambozeptoren vortäuschen. Weitere Untersuchungen müssen lehren, inwieweit in den bisherigen Untersuchungen über Antiambozeptoren derartige bisher nicht berücksichtigte Fehlerquellen eine Rolle spielen."

Bei den von mir in dieser Richtung angestellten Untersuchungen bin ich von den Resultaten ausgegangen, die Ehrlich in der VI. Mitteilung über Hämolysine gefunden hat.

Es handelt sich da um einen Immunkörper, der auf den künstlich hergestellten Ochsenbluthämolytischen Ambozeptor eines Kaninchens wirken sollte. Zu dem Zwecke wurde das S. vom Kaninchen, die mit Ochsenblutkörperchen vorbehandelt waren, einer Ziege eingespritzt. Dabei ist zu bemerken, dass neben dem Antiambozeptor auf jeden Fall ein auf Kaninchen-S. präzipitierend wirkendes A.-S. entsteht.

Der Bindungsversuch wurde in folgender Weise angestellt: 0,5 ccm S. der, wie oben angegeben, vorbehandelten Ziege wurden mit wechselnden Mengen des Ochsenblut hämolitischen Kaninchen-S. gemischt. Hierauf jeder Mischung 1 ccm einer 5% Ochsenblutkörperchenaufschwemmung zugesetzt. Das ganze bleibt eine Stunde bei 40° und wird dann zentrifugiert. Das Sediment wird von neuem in Kochsalzlösung

aufgeschwemmt und je 0,15 ccm normales Meerschweinchen-S. Bei Zusatz von 0,00125—0,00375 Ochsenblut hämolytischen Ambozeptors, der ohne Zusatz von Anti-S. zur vollständigen Hämolyse sicher genügte, trat keine Hämolyse ein. Ich habe schon oben darauf hingewiesen, dass das antiimmunkörperhaltige Ziegen-S. zugleich ein Präzipitin für Kaninchen-S. enthielt.

Antiambozeptor-S. + Ochsenblutambozeptor-S.
zugleich Kaninchen-A.-S. zugleich Kaninchen-S.

Ein Präzipitat wird also gebildet und damit ist die Möglichkeit der Komplementablenkung gegeben. Aber die Blutkörperchen werden ja nach der Präzipitatbildung abzentrifugiert und aufgeschwemmt, dann erst Komplement zugesetzt. Eine Ablenkung wäre also nur möglich, wenn das Präzipitat mit abzentrifugiert würde und das ist in der Tat möglich. Ich nahm zu den Versuche ein beliebiges A.-S. in verschiedenen Mengenverhältnissen, dazu das Mittel des bei obigem Versuche wirkenden Normal-S.

0,5—0,3—0,1 Schweine-A.-S.
+ je 0,0025 Schweine-S.
+ je 1 ccm 5 % Hammelblutkörperchen,

bleiben zusammen 1 Stunde im Brutschrank stehen, dann wird zentrifugiert, der Bodensatz mit Kochsalzlösung gewaschen und dann ausgeschwemmt. Dann wurde 0,1 ccm Meerschweinchen-S. als Komplement zugesetzt, und das ganze blieb 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Dann erst Zusatz von 0,0035 Hammelblutambozeptor. Nach 2 Stunden Aufenthalt im Brutschrank nirgends Hämolyse. Das Präzipitat wurde mit abzentrifugiert und hatte in der Tat das Komplement gebunden. In dem Ehrlich'schen Versuche blieb 1. das Komplement nicht erst 1 Stunde

mit dem abzentrifugierten und aufgeschwemmten Bodensatz stehen.

2. Wurde der Ambozeptor gleich zugesetzt und war schon an die Blutkörperchen gebunden. Im 1. Fall kann noch geringe Komplementablenkung nach meinen Versuchen erfolgen, d. h. also wenn A.-S., S., Blutkörperchen, Komplement und Ambozeptor gleichzeitig in den Brutschrank gesetzt werden, sind aber wie im 2. Fall die Ambozeptoren schon an die Blutkörperchen verankert, so tritt das Komplement immer an diesen Ambozeptor heran; eine Ablenkung durch gleichzeitigen Zusatz von Präzipitin und präzipitaber Substanz ist ausgeschlossen.

Dass in dem oben beschriebenen Fall die Antiambozeptorwirkung durch das mit abzentrifugierte Präzipitat vorgetäuscht werden könnte, ist demnach nicht möglich.

Von meinem Pferde-A.-S. konnte ich erwarten, dass dasselbe Antiambozeptoren gegen die auf Meerschweinchenblutkörperchen wirkenden Ambozeptoren des natürlichen Pferde-S. besass, da alle von mir daraufhin untersuchten Pferdesera Meerschweinchenblut lösten.

0,2 norm. inakt. Pferde-S.
+ 0,3 Hammel-S. als Komplement
lösen 1 ccm 5% Meerschweinchenblutkörperchen komplett in $^1/_4$ Stunde.

Da Hammelblut auch Meerschweinchenblut löst, wurde der Ambozeptor des Hammelblutes in der schon wiederholt beschriebenen Weise eliminiert.
0,3 Pferde-S. inakt. + Pferde-A.-S. 0,05 + 0,3 Hammel-S. als Komplement, bleiben 2 Stunden bei 20° stehen.

Dann Zusatz von 1 ccm 5% Meerschweinchenblutkörperchen. Nach 2 Stunden keine Hämolyse, abzentri-

fugiert, den Bodensatz von neuem mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt, dazu von neuem 0,3 Hammel-S. als Komplement: nach 2stündigem Verweilen bei 37° keine Hämolyse. Das Nichteintreten der Hämolyse im obigen Falle vor dem Abzentrifugieren kann ebensogut auf Komplementablenkung durch das bei dem Versuch zweifellos gebildete Präzipitat, als auf Antiambozeptorwirkung beruhen. Beim zweiten Versuche nach dem Abzentrifugieren kann in dem aufgeschwemmten Bodensatz neben den an die Blutkörperchen verankerten Ambozeptoren auch das mit abzentrifugierte Präzipitat vorhanden sein, aber haben die Komplemente die Wahl zwischen Präzipitat oder an Blutkörperchen verankerte Ambozeptoren, so tritt das Komplement unter allen Umständen an die hämolytischen Ambozeptoren, es kommt zur Hämolyse trotz gleichzeitiger Anwesenheit des Präzipitats, dieser Satz steht nach meinen in dieser Richtung angestellten Versuchen unbedingt fest.

Zur Erläuterung diene auch folgender Parallelversuch:

Pferde-S. inaktiv	Pferde A.-S.	Meerschw. S. als Komplem.	Hammelblutkörp.-Ambozept.	5 % Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Hämolyse nach 2 Std. bei 37°.
0,3	0,05	0,075	0,002	1 ccm	—
0,1	0,05	0,075	0,002	1 ccm	—
0,01	0,05	0,075	0,002	1 ccm	—
1 Stunde bei 20°.					

Die Hämolyse bleibt aus, weil die Komplemente durch das Präzipitat abgelenkt werden, Antiambozeptor-

wirkung ist ausgeschlossen, es wird ja eine andere hämolytische Kombination benutzt, auf die der Pferdeantiambozeptor keinen Einfluss haben kann. Zentrifugierte ich jetzt, schwemmte den Bodensatz mit Kochsalzlösung auf und fügte von neuem Komplement zu, so trat nach kurzem Verweilen der Röhrchen im Brutschrank Hämolyse ein, im Gegensatz zu den oben angeführten Versuchen, wo der Meerschweinchen hämolytische Pferde-S.-Ambozeptor und Pferde A.-S. auf einander wirkten. In beiden Fällen sind die Bedingungen zur Komplementablenkung durch das event. mit abzentrifugierte Präzipitat dieselben. Das Ausbleiben der Hämolyse in dem früheren Versuche kann also nur durch im Pferde A.-S. vorhandene Antiambozeptoren, die sich mit den Ambozeptoren des natürlichen Pferde-S. verbinden, erklärt werden.

Ehrlich und andere haben gezeigt, dass sich der künstlich erzeugte Antiambozeptor mit der komplementophilen Gruppe des Ambozeptors vereinigt. Danach konnte ich erwarten, bei folgender Versuchsanordnung sicher Vortäuschung von Antiambozeptorwirkung durch Komplementablenkung ausschliessen zu können. 0,3 Pferdeambozeptor liess ich mit 1 ccm 5% Meerschweinchenblutkörperchenaufschwemmung 1 Stunde im Brutofen stehen, zentrifugierte dann, fügte Pferde A.-S. zu dem in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Sediment und erwartete dann, nachdem diese Mischung einige Stunden bei 37° auf einander gewirkt hatte, dass sich der Antiambozeptor des Pferde A.-S. mit der komplementophilen Gruppe des an die Blutkörperchen verankerten Pferdeambozeptors verbunden hätte, sodass das dann zugefügte Komplement (Hammelserum 0,2) keine freien komplementophilen Gruppen mehr hätte finden können.

Dies geschah bei meinen Versuchen nicht, es trat Hämolyse ein.

In der in Nr. 20 und 21 der Berliner klinischen Wochenschrift erschienen Arbeit „über Antiambozeptoren" weisen Browning und Sachs die Existenz wirklicher Antiambozeptoren nach, indem sie von denselben Gesichtspunkten ausgehen, wie ich es oben getan habe, jedoch arbeiten sie mit künstlich erzeugten Ambozeptoren und deren Antiambozeptoren. Ihre Resultate bei Bindung der an Blutkörperchen verankerten Ambozeptoren mit entsprechenden Antiambozeptoren, wie es in meinem zuletzt beschriebenen Versuche geschieht, waren nicht konstant, doch gelang ihnen der Versuch in bestimmten Kombinationen.

Als mir die Arbeit der beiden Autoren in die Hände kam, waren meine Versuche über dieses Tema beendigt.

Die Frage, wie hat man sich den Ablenkungsvorgang vorzustellen, ist bisher noch offen gelassen.

Offenbar steht er mit der Präzipitation in engem Zusammenhang. Jedoch werden die Komplemente nicht bei der Bildung des Präzipitats mit ausgefüllt. Es braucht ja gar kein sichtbares Präzipitat gebildet zu werden, und auch das fertige abzentrifugierte Präzipitat ist fähig Komplemente zu binden.

Anmerkung. Nach Abschluss meiner Arbeit erschien in Nr. 31 der Berl. kl. W. eine Arbeit von Friedberger und Moreschi „über Antiambozeptoren gegen die komplementophile Gruppe des Ambozeptors." Diesen Autoren gelingt die Bindung der Antiambozeptoren an die schon an die Blutkörperchen verankerten Ambozeptoren nicht, obwohl sie dieselben hämolytischen Kombinationen benutzen, die Sachs angegeben hat. Friedberger und Moreschi kommen deshalb zu dem Schluss, dass sich die Antiambozeptoren nicht, wie man bisher annahm, mit der komplementophilen Gruppe der Ambozeptoren, sondern deren cytophilen Gruppe verbinden.

Das Präzipitin hat man sich bisher als einen dem Toxin ähnlichen Körper vorgestellt mit 2 Gruppen, einer haptophoren, die sich an das Eiweissmolekül bindet und einer zymotopischen, die das Präzipitat erzeugt. Offenbar haben die Präzipitine aber auch komplementophile Gruppen, die erst dann im Stande sind, Komplemente zu binden, wenn das Präzipitin an der präzipitablen Substanz verankert ist. Für den Präzipitationsvorgang haben diese Gruppen keine Bedeutung, in der Präzipitationswirkung von A.-S. besteht zwischen aktiven und passiven A.-S. kein Unterschied. Durch Erhitzen verlieren die Präzipitine ihre Eigenschaft Komplemente zu binden. Moreschi gibt die hierzu nötige Temperatur auf 75° an, ich fand dieselbe nicht konstant etwa bei 70°.

Schon oben wurde erwähnt, dass das Neisser-Wechsberg'sche Phänomen (schädliche Wirkung bakterizider Sera bei Einverleibung zu grossen Mengen der Immunsera) vielleicht durch Ablenkung der Komplemente im Tierkörper zu erklären ist; d. h. wird einem Tiere immunkörperhaltiges Serum einer fremden Tierart einverleibt, so wird ein spezifisches Präzipitin gebildet. Da das artfremde Serum längere Zeit im Tierkörper kreist, so sind die Bedingungen zur Komplementbindung durch Präzipitin und präzipitabler Substanz gegeben.

Die günstigeren Erfolge bei Verwendung von Immunsera, die von derselben Tierspezies gewonnen sind, z. B. des Rinderpestserums, oder von Immunseragarnischen verschiedener fremder Tierarten wurden bisher durch die Annahme erklärt, dass die Komplemente des behandelten Tieres leichter passende komplementophile Gruppen finden.

Ob hierbei nicht auch die Ausschaltung resp. Herabsetzung der Präzipitinbildung bei Verwendung derartiger Sera eine Rolle spielt, müssen weitere Versuche ergeben.

Aus meiner Arbeit geht hervor:

1. Die Komplementablenkung durch Präzipitin und präzipitable Substanz kann zum Blutnachweis für forensische Zwecke benutzt werden.

   Die Methode hat vor der Präzipitationsmethode den Vorzug, dass man mit weniger starken A.-S. auskommt und bedeutend kleinere Eiweissmengen nachweisen kann.

   Dem stehen folgende Nachteile gegenüber: Präzipitin und präzipitable Substanz einerseits, Komplement und Ambozeptor andererseits müssen in bestimmten Mengenverhältnissen stehen, die durch eingehende Vorversuche erst festzustellen sind. Stets muss die minimale Ambozeptor- und Komplememententmenge von neuem bestimmt werden. Ferner können auch andere Stoffe, z. B. normale S., die Hämolyse aufheben und so Komple-

mentablenkung vortäuschen. Genügende Kontrollversuche sind deshalb unerlässlich. Auch erfordern die Vor- und Kontrollversuche viel Zeit, Serummaterial und exakte Arbeit und machen die Methode nur in der Hand des Geübten brauchbar.

2. Die A.-S. dürfen erst dann den Tieren abgenommen werden, wenn keine präzipitable Substanz mehr im Organismus kreist; noch am 11. Tage nach der letzten Injektion von 10 ccm S. konnte ich bei einem Kaninchen präzipitable Substanz nachweisen.
3. Natürliche Hämolyse kann nur in Ausnahmefällen angewendet werden, sicherer ist es immer, künstlich erzeugten Ambozeptor eines inactivierten Serums mit Komplementzusatz zu benutzen.
4. Die Frage, ob die A.-S. wirklich Antikomplement enthalten, oder solches durch Komplementablenkung vorgetäuscht wird, ist bisher unentschieden.
5. Das Vorkommen von Komplementoiden ist weder durch die früheren Versuche korrekt nachgewiesen, noch konnte ich solche mittelst der Ablenkungsmethode zum Ausdruck bringen.
6. Dagegen konnte ich nachweisen, dass die A.-S. zweifellos Antiambozeptoren enthalten.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Geh. Rat v. Leube für die Übernahme des Referats und Herrn Privatdozenten Dr. Rostoski für die liebenswürdige Unterstützung bei der Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Gengou: Sur les sensibilisatrices des sérums actifs contre les subtances albuminoides (Annales de l'Institut Pasteur T. XVI 1902.)
2) Moreschi: Zur Lehre von den Antikomplementen (Berl. klin. Woch.-Schr. 1905 Nr. 37.)
3) Rostoski: Über Präzipitine und Eiweissimmunität. „Medizinische Klinik" 1906 Nr. 14 und 15.
4) Neisser und Sachs: Ein Verfahren zum forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes. (Berl. klin Woch.-Schr. 1905 Nr. 44.)
5) Friedberger: Zur forensischen Eiweissdifferenzierung auf Grund der hämolytischen Methode mittelst Komplementablenkung. (Deutsche med. Woch.-Schr. 1906 Nr. 15.)
6) Schütze: Über die Anwendung der Ablenkung hämolytischer Komplemente zum Nachweis von Fleischfälschungen. (Med. Klinik 1906 Nr. 18.)
7) Moreschi: Zur Lehre von den Antikomplementen. (Berl. kl. Woch.-Schr. 1906 Nr. 4.)
8) Gay: the fixation of alexines by specific serum precipitates. (Centralblatt f. Bacter. Bd. XXXIX H. 5.)
9) Wassermann und Bruck: Deutsche med. Woch.-Schr. 1906 Nr. 17.
10) Weil und Nakayama: Über den Nachweis von Antituberkulin in tuberkulösen Geweben. (Münch. med. Wochen-Schrift 1906.)
11) Pfeiffer und Moreschi: Über scheinbare antikomplementäre und Antiambozeptorwirkung präzipitierender Sera im Tierkörper. (Berl. klin. Woch.-Schr. 1906 Nr. 2.)
12) Uhlenhuth: Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. (Verlag Fischer, Jena 1905.)

13) Wassermann: Über eine neue forensische Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. (Berliner kl. Woch.-Schr. 1901 Nr. 7.)
14) Stern: Deutsche med. Woch.-Schr. Nr. 9.
15) Neisser und Sachs: Die forensische Blutdifferenzierung durch antihämolytische Wirkung. (Berl. kl. Woch.-Schr. 1906 Nr. 3.)
16) Rostoski: Verh. der Würzb. med. Ges. 1902.
17) Michaelis: Über Hemmungen der Präzipitinreaktion. (Hofmeisters Beiträge 1903 IV.)
18) Marschall und Sachs: Klin. Medizin, B. 47, H. 3 und 4.
19) Ehrlich: Über Komplementoidverstopfung des Ambozeptors. (Berl. kl. Woch.-Schr. 1902 Nr. 21.)
20) Neisser u. Wechsberg: Über die Wirkungsart bakterieider S. (Münch. med. Woch.-Schr. 1901.)

Lebenslauf.

Ich, Eduard Rose, preussischer Staatsangehörigkeit, bin geboren am 17. Sept. 1878 zu Düsseldorf als Sohn des damaligen Kaufmanns August Rose in Düsseldorf. Nach Besuch der städtischen Vorschule und des städtischen Gymnasiums zu Düsseldorf erwarb ich mir im Februar 1899 das Reifezeugnis in Düsseldorf und bezog im April d. J. die Universität zu Würzburg, blieb hier zunächst 4 Semester, studierte dann ein Semester in Tübingen, diente im folgenden Semester in Würzburg das erste halbe Jahr, brachte das nächste Semester in Bonn zu und kehrte im folgenden Semester wieder nach Würzburg zurück, wo ich im Juli 1905 das Staatsexamen vollendete.

Vorstehende Dissertation habe ich unter Leitung des Herrn Privatdozenten Dr. Rostoski im Laboratorium der Med. Klinik zu Würzburg (Direktor Geh.-Rat Prof. Dr. von Leube) verfasst.